

沉积物及水界面硝化与反硝化作用研究

王巧稚 曹文志 黄一山 何月云

(厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 环境科学研究中心, 福建 厦门, 361005)

【摘要】 河道是迁移转化来自陆源 N 素迁移的重要途径。准确测定河道中硝化、反硝化作用对流域 N 的收支平衡核算有重要意义。本文分析了河道中沉积物-水界面硝化、反硝化作用的原理并分析了 N_2 通量法、 ^{15}N 同位素法、抑制剂法的优缺点。建立科学、合理的实验方法将进一步完善流域 N 循环研究机制, 为建立科学的流域管理措施提供技术支持。

【关键词】 硝化; 反硝化; N_2 通量; ^{15}N 同位素; 抑制剂

中图分类号: X131.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-288X (2008) 04-0058-03

河道是迁移转化来自陆源 N 素的重要途径, 然而在流域尺度污染源评价中, 往往忽略了河道系统内部氮的转化和贡献^[1]。硝化作用与反硝化作用是 N 循环中极重要的生物地球化学过程。反硝化作用是微生物利用有机物作为碳源及电子供体, 将硝酸盐和亚硝酸盐作为最终的电子受体, 异化还原为气态氮的微生物过程^[2], 河道中的反硝化作用是减少河流 N 负荷、缓解富营养状况的主要生物过程。硝化作用是唯一能将 NH_4^+ 转化为 NO_3^- 的自然过程。硝化作用不仅对溪流生物生产具有重要的影响, 而且将氮的矿化再生与反硝化这一去营养化作用联系起来。硝化作用为反硝化作用提供 NO_3^- , 从而使 NO_3^- 成为硝化作用与反硝化作用的纽带。而正是因为该纽带的作用, 这两个过程可能耦合——即局部的反硝化速率取决于附近硝化菌的活性和作用^[3]。

河道中沉积物-上覆水界面存在较为活跃的生物地球化学反应, 如生物吸收、氨化、硝化、反硝化等过程, 如图 1 所示。河流中藻类光合作用产生有机物并向下迁移到沉积物中, 而呼吸作用将这些不稳定的有机氮化合物分解转化为 NH_4^+ , 沉积物中的 NH_4^+ 或被硝化菌氧化为 NO_3^- 或被沉水植物吸收或从沉积物扩散到水体; 硝化作用生成的 NO_3^- 或在硝化菌利用下转化

为 N_2 或被发酵菌还原、或从沉积物扩散到水体。上覆水中的 NH_4^+ 与 NO_3^- 也能扩散到沉积物中并发生类似反应。Dn 是与硝化作用耦合的反硝化作用强度, Dw 是水体中 NO_3^- 参与的反硝化作用强度, 即非耦合反硝化作用强度。因此, 准确测定河道中硝化、反硝化作用对流域 N 的收支平衡核算有重要意义。

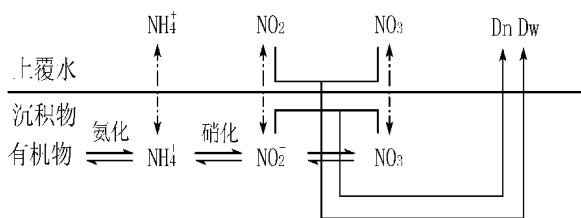


图 1 沉积物-水界面硝化、反硝化作用示意图

1 沉积物-水界面硝化、反硝化速率的测定方法

目前, 测定沉积物-水界面硝化、反硝化作用的常用方法有 ^{15}N 同位素法、 N_2 通量法和添加抑制剂法。

1.1 ^{15}N 同位素法

Koike 和 Hattori 应用了 ^{15}N 稀释法同步测量了沉积物的硝化速率及 NO_3^- 减少率。将沉积物处理后去除空隙水, 将一定量沉积物与含已知浓度 $^{15}NO_3^-$ 与 NH_4^+ 的无菌水混合后在现场温度下培养, 定期监测水样中 $^{29}N_2$

参考文献

- 1 王丰春, 田新珊. 城市垃圾处理方法综述 [J]. 电力环境保护, 2003, 19 (1): 46~48
- 2 李国学, 周立祥, 李彦明. 固体废物处理与资源化 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2005.

- 3 马香娟, 陈郁. 农村生活垃圾资源化利用的分类收集设想 [J]. 能源工程, 2005, (1): 49~51.

作者简介: 谢蓉 (1976-), 女, 湖南人, 北京市海淀区环境卫生科学研究所, 工程师, 从事固体废弃物处理与资源化利用工作。

与 $^{28}\text{N}_2$ 、 NO_3^- 、 NO_2^- 的浓度, 其中后两者均通过试剂还原为 N_2 后通过质谱仪检测 $^{29}\text{N}_2$ 与 $^{28}\text{N}_2$ 的比率计算。反硝化速率可由 $^{29}\text{N}_2$ 和 $^{28}\text{N}_2$ 产生的速率计算; 硝化速率由 $^{14}\text{NO}_3^-$ 通量计算^[4]。

这种方法的主要不足是没有计算沉积物中与硝化作用耦合的反硝化作用, 从而低估了硝化、反硝化作用。对该方法的修正是采用两组沉积物对照培养样, 一组添加 $^{15}\text{NO}_3^-$, 根据上覆水中 NO_3^- 浓度估算反硝化速率, 另一组添加 $^{15}\text{NH}_4^+$ 以计算硝化速率。总反硝化速率为两组培养样中反硝化速率之和^[5]。该方法通常要添加大量的 $^{15}\text{NH}_4^+$ 以达到 NH_4^+ 的监测限。而硝化速率随 NH_4^+ 浓度的增加而加剧, 大量增加 $^{15}\text{NH}_4^+$ 浓度会影响硝化速率及与硝化作用耦合的反硝化速率的计算。

在此基础上其他学者采用同位素对法测量硝化、反硝化速率。在沉积物的上覆水中添加 $^{15}\text{NO}_3^-$, 扩散到沉积物中的 $^{15}\text{NO}_3^-$ 会与沉积物中的 $^{14}\text{NO}_3^-$ 相混合。反硝化的最终产物为 $^{30}\text{N}_2$ 、 $^{29}\text{N}_2$ 、 $^{28}\text{N}_2$, 前两者的浓度可由质谱仪检测, 后者通过假设同位素任意配对计算。非耦合反硝化速率通过测量 N_2 中 ^{15}N 原子的通量计算; 耦合反硝化速率为 N_2 产生率与非耦合反硝化速率之差; 硝化速率为 $^{14}\text{NO}_3^-$ 通量与耦合反硝化速率之和^[6]。该方法需要加入外源的氮素、测定时对仪器的要求较高且费用很高, 增加了推广的难度。

1.2 N_2 通量法

N_2 通量法直接测定密闭的沉积物培养罐中生成的 N_2 。此方法无需抑制剂就能直接测定反硝化作用, 并能分别测定上覆水及沉积物中 NO_3^- 发生的反硝化作用强度。由于 N_2 在空气中的背景浓度太高而干扰反硝化作用强度的测量, 须对培养样作较长时间的预处理。

Seitzinger 等通过连续 10 天向沉积物注入含有 He 、 O_2 、 CO_2 混合气体的上覆水以降低沉积物间隙水中 N_2 的背景浓度。培养期间, 每隔 24 小时监测上覆水相与气相中增加的 N_2 浓度。培养中培养罐需具备良好的密闭性^[7]。

该方法长时间的培养会造成沉积物、水体中溶解氧的大量丧失, 此期间沉积物的性状也可能发生变化而导致测定的反硝化速率与实际情况不一致。Nowick 对此方法的修正是采用多个缺氧环境的平行培养样。由于缺氧环境抑制了硝化作用, 与硝化作用耦合的反硝化作用也受到抑制, 间隙水中 N_2 的扩散更容易控制, 从而将预培养时间缩短到 2 天^[8]。

N_2 ∶ Ar 法在操作上有别于一般的 N_2 通量法, 该方法利用膜进样质谱仪 (MIMS) 持续抽取培养中的沉积物- 上覆水样品检测 N_2 ∶ Ar 比值随时间的变化。根据所测得的 N_2 ∶ Ar 比值和假定的 Ar 浓度计算反硝化速率。由于 Ar 浓度关系到反硝化计算结果的准确度, 培养过程中需采用恒温水浴培养以确保 Ar 浓度的稳定。Eyre 等分析了气泡及 O_2 的产生对 Ar 浓度存在影响, 认为大气及水下 O_2 产生的气泡能改变 Ar 的浓度, 因为气泡中 N_2 溶解度大于 Ar , 从而影响 N_2 ∶ Ar 比值的测量^[9]。

但 N_2 通量法面临高估实际反硝化速率的可能性。由于反硝化速率应为沉积物- 水系统 N_2 通量与系统固氮速率之差, 只有在固氮速率极低的情况下才能认为 N_2 通量计算的 反硝化速率接近实际值。Seitzinger、Luijn 以及 Eyre 等都比较了 N_2 通量法及 ^{15}N 同位素法测量沉积物反硝速率的效果^[10, 9], 不约而同的是, 均发现 N_2 通量法测得的反硝化速率比 ^{15}N 同位素法高 3 倍左右。

1.3 添加抑制剂法

氯啉 (nitraprin) 是常用的硝化抑制剂, 溶于二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide)。此类测硝化作用强度的室内微环境实验需在抑制样中添加氯啉及二甲基亚砜, 在参比样中添加二甲基亚砜同步培养。但在乙炔抑制样中除添加氯啉, 还需添加二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide) 作为抑制剂的溶解剂, 才能使抑制剂能均匀分布在沉积物与水样中。相比之下, 用乙炔作为乙炔抑制剂具有高灵敏度、重现性好、较短培养时间、对环境影响较小等特点, 同时, 乙炔还能抑制反硝化作用。乙炔在水中的溶解度较高 (1.06vol/vol), 能分布到水系中硝化、反硝

表 1 N_2 通量法、 ^{15}N 同位素法测反硝化速率结果比较

资料来源	采样地点	沉积物 性状	采样 时间	培养温度 (℃)	实验方法	DI(μmol/ Nm ² h)	
						D _N	D _W
Seitzinger et al. , 1993	Lake Vilhelmsborg ϕ, Denmark	mud	9 月	23	¹⁵ N 同位素	121~ 290	77~ 220
					N ₂ 通量法	350~ 440	370~ 610
Luijn et al. , 1995	Lake Nukdernauw	70% sand, 30% clay	11 月	2, 6, 12, 20	¹⁵ N 同位素	29	29
					N ₂ 通量法	92	92
		mud	12 月		¹⁵ N 同位素	21	76
					N ₂ 通量法	214	214
Eyre et al. , 2002	Aarhus Bay	21% sand, 23% silt, 56% clay	10 月	10	¹⁵ N 同位素	97~ 183	
					N ₂ 通量法	29~ 39	
			11 月		¹⁵ N 同位素	79~ 105	
					N ₂ 通量法	30~ 34	

注: DT 为总反硝化速率; D_N 为耦合反硝化速率; D_W 为非耦合反硝化速率。

化新陈代谢的点位^[11]。

乙炔对硝化作用的抑制是通过抑制氨氧化酶的活性,直至造成氨氧化酶不可逆的失活而达到的。实验表明,当乙炔被移除 7 天后,氨氧化酶才在硝化细菌的作用下被重新合成^[12]。乙炔对反硝化作用的抑制是通过抑制 N_2O 转化为 N_2 的过程。当乙炔浓度 > 10% 时, NH_4^+ 的氧化与 N_2O 的还原均受抑制^[13],可同步测定沉积物-水界面的硝化和反硝化速率,所以乙炔抑制法在湖泊、海洋生态系统水土界面氮迁移动态研究中得到了广泛的应用。

Teissier 通过微环境培养,测定了沉积物-水界面的硝化、反硝化速率。将沉积物、上覆水装于培养罐培养 3 个小时后向罐内注入乙炔气体再培养 3 小时。间隔半小时取水样监测 N_2O 、 NO_2^- 、 NO_3^- 与 NH_4^+ 的浓度。硝化速率由添加乙炔之后与之前 NH_4^+ 通量之差计算;耦合反硝化速率为添加乙炔之后与之前 N_2O 通量之差;非耦合反硝化速率为添加乙炔之后 N_2O 通量^[14]。

研究表明该方法对于 NO_3^- 浓度低于 $10\mu mol/l$ 的海洋沉积物的反硝化作用不完全,会使测得的反硝化速率比¹⁵N 同位素法测量值低 30%~50%^[15]。但该方法简单易行,在实际操作中具有一定的推广性。

2 小结

本文针对河道硝化、反硝化作用研究的重要性,分析了河道中沉积物-水界面硝化、反硝化作用的原理并总结了相应的实验研究方法及其优缺点。在具体的研究中应根据实际情况选择相应的实验方法。目前研究沉积物-水界面硝化、反硝化作用的方法仅应用在室内微环境实验中,而微环境实验条件均在理想条件下进行,所以有可能高估硝化、反硝化作用。室内实验并不能代替野外实验的实际情况,所以野外现场实验的研究更具有实际意义。

流域土壤硝化、反硝化作用的研究已有比较深入的研究,关于河道硝化、反硝化作用的研究还鲜有报道。但一些学者对河道 N 素的地表径流输出过程及机制的研究已意识到河道中存在明显的硝化、反硝化作用^[16]。建立科学、合理的方法研究这些 N 的迁移转化过程将进一步完善流域 N 循环研究机制,为建立科学的流域管理措施提供技术支持。

参考文献

- 1 Puckett, L. J. Identifying the major sources of nutrient water pollution [J]. *Environmental Science & Technology*. 1995, 29: 408~414.
- 2 Firestone, M. K. and Davidson, E. A. Microbiological basis of NO and N_2O production and consumption in Soil. In: Andreae, M. O., Schimel, D. S. (Eds.), *Exchange of Trace Gases between Terrestrial Ecosystems and the Atmosphere*. Wiley, Chichester. 1989: 7~21.

- 3 Duff J. H., Triska F. J. Nitrogen biogeochemistry and surface-subsurface exchange in streams In: Jones, J. B., Mulholland, P. J. eds., *Streams and Ground Waters*, Academic Press, San Diego, 2000: 197~220.
- 4 Koike, I., and A. Hattori. Simultaneous determination of nitrification and nitrate reduction in coastal sediments by a N dilution technique [J]. *Applied Environmental Microbiology*. 1977, 35: 853~857.
- 5 Nishio T., Koike I., Hattori A. Estimates of denitrification and nitrification in coastal and estuarine sediments [J]. *Applied Environmental Microbiology*. 1983, 45: 444~450.
- 6 Luijn V F, Boers P C, Lijklema L. Comparison of denitrification rates in lake sediments obtained by the N_2 flux method, the N isotope pairing technique and the mass balance approach [J]. *Water Research*. 1996, 30: 893~900.
- 7 Seitzinger S. P., Nixon S. W., Pilson M. E. Q., Burke S. Denitrification and N_2O production in nearshore marine sediments [J]. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1980, 44: 853~860.
- 8 Nowicki, B. L. The effect of temperature, oxygen, salinity, and nutrient enrichment on estuarine denitrification rates measured with a modified nitrogen gas flux technique [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 1994, 38: 137~156.
- 9 Eyre et al., B. D. Eyre, S. Rysgaard, T. Dalsgaard and P. B. Christensen. Comparison of isotope pairing and N_2 : Ar methods for measuring denitrification—assumptions, modifications and implications [J]. *Estuaries*, 2002, 25: 1077~1087.
- 10 Seitzinger, S. P., Nielsen, L. P., Caffrey, J., Christensen, P. B. Denitrification measurements in aquatic sediments: a comparison of three methods [J]. *Biogeochemistry*. 1993, 23: 147~167.
- 11 Chan Y. K. and Knowles R. Measurement of denitrification in two freshwater sediments by an in situ acetylene inhibition method [J]. *Applied and Environmental Microbiology*. 1979: 1067~1072.
- 12 Berg P., Klemetsson L. and Rosswall T. Inhibitory effect of low partial pressures of acetylene on nitrification [J]. *Soil Biology and Biochemistry*. 1982, 14: 301~303.
- 13 Sloth N. P. Nitrification in sediment cores measured with acetylene inhibition [J]. *Limnol Oceanogr* 1992, 37: 1108~1112.
- 14 Teissier S., Torre M. Simultaneous assessment of nitrification and denitrification on freshwater epilithic biofilms by acetylene block method [J]. *Water research*. 2002, 36: 3803~3811.
- 15 Nielsen L. P. Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing [J]. *FEMS Microbiological Ecology*. 1992, 86: 357~362.
- 16 王吉苹, 曹文志. 应用 GLEAMS 模型评估我国东南地区农业小流域硝氮的渗漏淋失 [J]. *生态与农村环境学报*, 2007, 23 (1): 8~32.

基金项目: 国家自然科学基金 (40671116), 福建省自然科学基金重点项目 (D0720002), 教育部和福建省高校新世纪优秀人才支持计划资助。

作者简介: 王巧稚, (1983-), 女, 湖北荆门人, 厦门大学硕士研究生, 主要从事流域生态、环境规划与评价研究。